

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461278

研究課題名(和文) 脳虚血後微小循環障害の機序解明- アンギオテンシンに注目して -

研究課題名(英文) Role of angiotensin for the disturbed microcirculation in the ischemic brain

研究代表者

林 健 (Hayashi, Takeshi)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：40314679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)： 虚血脳での微小循環障害におけるアンギオテンシンの役割を検討した。1型アンギオテンシンII受容体(AT1)欠損マウスと野生型マウスを用い、虚血再灌流後の脳表血管での白血球や血小板のadhesionやrollingを観察したところ、AT1欠損マウスは野生型マウスより少数のadhesionやrollingしか生じていないことが判明した。次に2型アンギオテンシンII受容体(AT2)欠損マウスと野生型マウスで同様の比較をしたところ、AT2欠損マウスではより多くのadhesionやrollingが観察された。AT1経路阻害とAT2刺激が脳梗塞の予後を改善させるという知見と合致する結果と考えられた。

研究成果の概要(英文)： Deranged microcirculation is one of the reasons of unsatisfactory results of thrombolytic therapy for ischemic stroke. We investigated role of angiotensin for the microcirculation disturbance in the ischemic brain.

With use of type 1 angiotensin II receptor (AT1) knock-out and wild-type mice, we observed adhesion and rolling of leukocytes and platelets on the microvessel wall in the brain after transient ischemia. Fewer numbers of cells showed adhesion and rolling in the AT1 knock-out mice. Then we used type 2 angiotensin II receptor (AT2) knock-out and wild-type mice, and observed in a same manner. Contrarily, AT2 knock-out mice showed more adhesion and rolling of leukocytes and platelets in the brain microvessels after transient ischemia.

Blocking AT1 and stimulation of AT2 are associated with better prognosis in human stroke. Our results indicate that improved microcirculation could underlie this brain-protective effect.

研究分野：神経内科学

キーワード：脳虚血 微小循環障害 再灌流 アンギオテンシン

1. 研究開始当初の背景

血栓溶解療法やカテーテルによる血栓除去などの血行再建治療が超急性期脳梗塞に対して広く行われるようになってきているが、血管閉塞部位が再開通しても患者の機能予後が必ずしも良好なわけではない。これには、主幹動脈が再開通しても脳微小循環の障害が残ることが一因と考えられている。

そのため、虚血後脳における脳微小循環障害の機序解明は、今後の脳梗塞治療のためにも重要なテーマである。

2. 研究の目的

アンギオテンシン II は、その拮抗薬もしくは生成阻害薬が脳梗塞予後改善効果を有することが知られている。これには微小循環障害への影響があるのかもしれない。そのため我々はアンギオテンシン II に着目して、一過性虚血後脳における微小循環障害の機序を解明することを目的とした研究を行った。

3. 研究の方法

アンギオテンシン II 受容体には I 型と II 型 (以下それぞれ AT1、AT2 とする) があり、それぞれの遺伝子欠損マウスと野生型マウスを使用した。

麻酔下頸部正中切開を行い、両側総頸動脈を露出し、一過性 (15 分間) クリップングによる虚血再灌流モデルを作成した。その直後、bregma から 4mm 側方 1mm 後方に骨窓を作成、後に示す脳表血管の観察のために用いた。

再灌流 3 および 6 時間後の脳表血管を観察した。その観察に先立ち、標識白血球と標識血小板を準備した。これは、白血球または血小板とを年齢性別遺伝的背景を同一とした

ドナー動物を用意し、それから得られた白血球と血小板とを carboxyfluorescein iodoacetate succinimidyl ester (CFSE) に混和させ準備したものである。これを実験動物に静脈内投与した後、脳表細動脈および細静脈における白血球と血小板の adhesion と rolling を、intravital fluorescent microscopy で観察した。そして、AT1 遺伝子欠損マウスと野生型マウスで比較した。さらには、AT2 遺伝子欠損マウスと野生型マウスで比較した。

4. 研究成果

AT1 欠損マウスと野生型マウスでの検討

シャム群においては、AT1 欠損マウスにおいても野生型マウスにおいても、ごく少数の白血球および血小板が adhesion または rolling しているに過ぎなかった。ところが虚血再灌流 3 時間後には、多数の標識白血球および血小板が adhesion および rolling していることが観察された。AT1 欠損マウスと野生型マウスで比較すると、AT1 欠損マウス群にて adhesion および rolling している標識血球細胞は有意に少なかった。虚血再灌流 6 時間後となると、いずれに群においてもさらに adhesion および rolling している標識血球細胞は増加したが、3 時間後と同じように AT1 欠損マウス群にて adhesion および rolling している標識血球細胞は有意に少なかった。

これらの結果は、アンギオテンシン II による AT1 からのシグナルが虚血再灌流後の脳において微小循環障害を増悪させていることを示していると考えられる。

AT2 欠損マウスと野生型マウスでの検討

の実験と同じように、シャム群においては AT2 欠損マウスも野生型マウスもごく少数の白血球および血小板が adhesion または

rolling しているに過ぎなかった。ところが虚血再灌流 3 時間後には、多数の標識白血球および血小板が adhesion および rolling していることが観察された。AT1 欠損マウスと野生型マウスで比較すると、AT2 欠損マウス群にて adhesion および rolling している標識血球細胞はより多かった。虚血再灌流 6 時間後となると、いずれに群においてもさらに adhesion および rolling している標識血球細胞は増加したが、3 時間後と同じように AT2 欠損マウス群にて adhesion および rolling している標識血球細胞はより多かった (図 1)

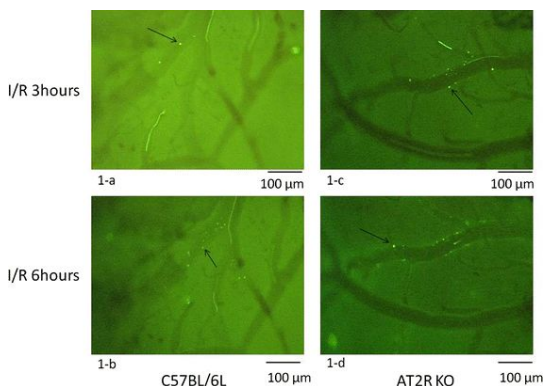


図 1 . 血管壁に付着している白血球と血小板は、AT2 欠損マウス群でより多いことが確認できる。

これらの定量的評価 (図 2、図 3) を行うと、3 時間後、6 時間後とも両群間の差は統計的に有意であることが分かった。

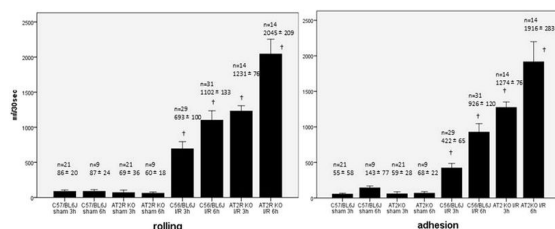


図 2 . AT2 欠損マウスと野生型マウスでの脳表静脈における rolling および adhesion を生じている血球の比較。†P < 0.05

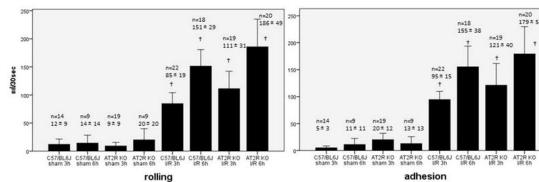


図 3 . AT2 欠損マウスと野生型マウスでの脳表動脈における rolling および adhesion を生じている血球の比較。†P < 0.05

これらの結果は、アンジオテンシン II による AT1 からのシグナルが虚血再灌流後の脳において微小循環障害を増悪させていることを示していると考えられる。

ヒト脳梗塞患者においては、AT1 拮抗薬もしくはアンジオテンシン II 合成阻害薬が脳梗塞予後を改善させることが知られている。この機序として、虚血脳における微小循環の改善効果が関与している可能性が考えられた。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Fukuoka T, Hayashi T, Hirayama M, Maruyama H, Mogi M, Horiuchi M, Takao M, Tanahashi N. J Thromb Thrombolysis (2015) 40: 401. (査読あり)
doi:10.1007/s11239-015-1254-y

[学会発表] (計 1 件)

福岡卓也、林 健、平山真紀子、丸山 元、棚橋紀夫 . アンジオテンシン II type 1 レセプター欠損マウスにおける脳虚血再灌流後の脳軟膜血管での血小板動態の検討 . 第 26 回日本脳循環代謝合会総会 . 平成 26 年 11 月 21 日 . 岡山県岡山市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 健 (HAYASHI, Takeshi)

埼玉医科大学 医学部 教授

研究者番号：40314679

(2) 研究分担者

栗田浩樹 (KURITA, Hiroki)

埼玉医科大学 医学部 教授

研究者番号：70262003

(3) 研究分担者

福岡卓也 (FUKUOKA, Takuya)

埼玉医科大学 医学部 講師

研究者番号：50646221

(4) 研究分担者

丸山 元 (MARUYAMA, Hajime)

埼玉医科大学 医学部 講師

研究者番号：00646680